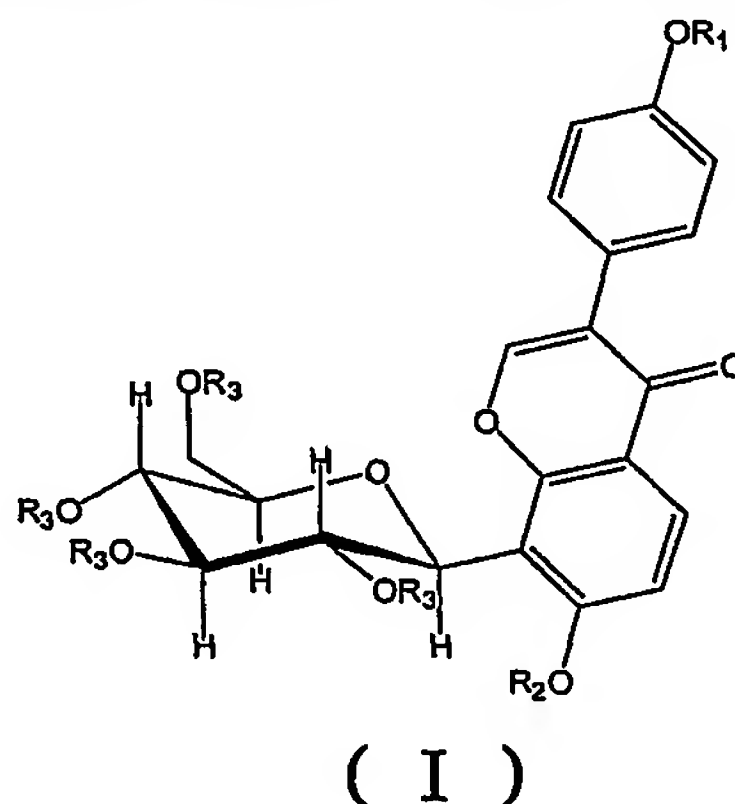


含烷胺基烷氧基取代的糖碳甙异黄酮化合物 及其制法和用途

技术领域

本发明涉及一类含烷胺基烷氧基取代的糖碳甙异黄酮化合物及其可作为药用的盐，其制备方法，以及含有效剂量的通式 I 化合物的药物组合物。这些化合物或组合物在治疗或预防心脑血管疾病，特别是治疗各类心脑血管缺血缺氧症，治疗或预防糖尿病及其并发症，以及治疗或预防化学品中毒，特别是酒精中毒中的用途。



背景技术

葛根素 (Puerarin, 普乐林, 式 I, $R_1 = R_2 = R_3 = H$) 是豆科属植物葛根中的有效成分，化学名称为 4', 7- 二羟基 - 8- β -D-葡萄糖碳甙异黄酮。几十年以来，人们对葛根素的基础与应用研究做了大量的工作，证明它确有扩张冠状动脉，改善心肌收缩功能，保护全心缺血心肌，促进血液循环等作用。目前该药临床上广泛用于治疗冠心病，心绞痛，心肌梗塞，心率失常，心力衰竭，椎-基底动脉供血不足，高粘血症，高血压，脑血栓，脑水肿，视网膜动脉和静脉阻塞，突发性耳聋，糖尿病及其并发症，农药中毒，酒精中毒，以及肿瘤等疾病 (王靖，吉民，华维一等：

葛根素研究进展。药学学报, 2003,27(2):70-3)。目前心脑血管疾病是我国成人死亡的首要病因, 主要用作为改善心脑血管循环的新药葛根素, 由于其结构新颖, 疗效确切, 因而具有重要的应用价值。

现有技术披露葛根素在临床上具有一些不良反应, 主要为发热、过敏反应、药物性皮炎和一过性血红蛋白尿等。程伟进等(药物流行病杂志, 2000; 9(3): 129-130)对568例使用过普乐林的患者调查表明, 发热的总发生率为5.81%, 年龄、性别差异无显著性, 日剂量高低组间也无显著差异, 主要与持续用药天数有关。停药或同时给予退热处理, 体温逐渐降至正常。抗生素治疗无效。这可能因为疗程过长, 药物积累引起毒性作用; 药物透过血脑屏障, 直接刺激下丘脑体温调节中心, 影响人体产热和散热过程, 以及迟发性变态反应。

曾经对葛根素的酚羟基和糖醇羟基进行修饰, 合成了一系列简单的烷基酯和醚类衍生物以及对兔眼组织血流量的影响(杨若林, 李娜等, 中国药科大学学报, 1999; 30(2): 81-85; 侯殿杰, 王建武, 孙建龙, 中国药物化学杂志, 2002; 12(2): 103-4)。但是其对心脑血管, 糖尿病和酒精中毒的药效以及毒性未作深入研究。

现有技术还披露, 葛根素的水溶性和脂溶性都很差, 其在水中的溶解度为0.462g/100ml。制剂中需添加助溶剂, 常用的有丙二醇和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等。在4.3%PVP水溶液中葛根素溶解度为1.332g/100ml。pH对葛根素的溶解度也有影响, 葛根素水溶液在pH偏高时, 其稳定性较差。在葛根素络合助溶过程中, 通常应将pH控制在6.5以下(吴正红 朱延勤等, 江苏药学与临床研究, 1999; 7(1): 9-12)。

现有技术进一步披露, 葛根素口服生物利用度较差, 约为30

%，临床一般为静注给药。葛根素水溶性差，口服生物利用度差以及所存在的副反应的缺点限制了其作为药用的价值。

在现有文献中，迄今尚未见到本发明之含有烷胺基烷氧基取代基团的糖碳甙异黄酮葛根素类化合物的报道，以及它们在涉及心脑血管疾病、糖尿病以及化学品中毒防治作用方面的用途。

发明内容

为了克服现有技术的不足，本发明的目的在于提供一类含有烷胺基烷氧基取代的糖碳甙异黄酮化合物；

本发明的另一目的在于提供制备含烷胺基烷氧基取代糖碳甙异黄酮化合物的方法；

本发明的再一目的在于提供一种含有一个或多个这种化合物的药物组合物；

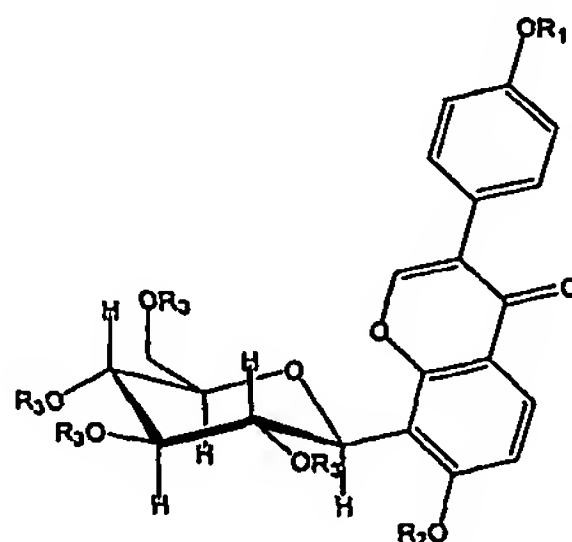
本发明的又一目的在于提供一种在防治心脑血管疾病尤其是缺血和缺氧相关疾病的药物中的用途。

本发明的另一目的还在于提供一种在治疗和预防糖尿病及其并发症药物中的用途。

本发明的再一目的还在于提供一种在治疗和预防化学品中毒特别是酒精中毒药物中的用途。

为了完成本发明之目的，本发明采取如下技术方案：

本发明涉及具有通式 I 所示的新型烷胺基烷氧基取代糖碳甙异黄酮化合物或其药用盐：



(I)

其中

R_1 和 R_2 分别选自氢、(C1 - C12) 直链或支链烷基胺基，一或二 (C₃₋₈) 环烷基胺基 C₁₋₆ 烷基或 (C5-C14) 杂环基 (C1 - C6) 烷基； R_3 选自氢、(C1 - C12) 直链或支链酰基或 C₆₋₁₄ 芳香碳酰基；其中 R_1 和 R_2 不同时代表氢；D-葡萄糖基的 1 位与异黄酮 8 位以 β 构型的碳甙相联结。

根据本发明式 I 化合物中各基团定义进一步优选为 R_1 和 R_2 分别选自氢，二甲胺基乙基，二乙胺基乙基，二正丙胺基乙基，二异丙胺基乙基，二正丁胺基乙基，二异丁胺基乙基，二叔丁胺基乙基，吡咯烷基乙基，哌啶基乙基，吗啉基乙基，哌嗪基乙基，N-甲基哌嗪基乙基，N-乙基哌嗪基乙基，叔丁胺基乙基，二环己基胺乙基；二甲胺基丙基，二乙胺基丙基，二正丙胺基丙基，二异丙胺基丙基，二正丁胺基丙基，二异丁胺基丙基，二叔丁胺基丙基，吡咯烷基丙基，哌啶基丙基，吗啉基丙基，哌嗪基丙基，N-甲基哌嗪基丙基，N-乙基哌嗪基丙基，叔丁胺基丙基，二环己基胺丙基；二甲胺基丁基，二乙胺基丁基，二正丙胺基丁基，二异丙胺基丁基，二正丁胺基丁基，二异丁胺基丁基，二叔丁胺基丁基，吡咯烷基丁基，哌啶基丁基，吗啉基丁基，哌嗪基丁基，N-甲基哌嗪基丁基，N-乙基哌嗪基丁基，叔丁胺基丁基，二环己基胺丁基； R_3 选自氢，丙酰基，丁酰基，异丁酰基，2-甲基丁酰基，3-甲基丁酰基，2,2-二甲基丙酰基，戊酰基，己酰基，庚酰基，辛酰基，壬酰基，癸酰基，月桂酰基。可作为药用的盐选自可作为药用的各种有机和无机羧酸盐，包括盐酸，氢溴酸，磷酸，亚磷酸，硫酸，甲磺酸，对甲苯磺酸，马来酸，富马酸，酒石酸，以及各种天然或非天然氨基酸等。

为了制备本发明通式 I 中所述的化合物, 本发明包括, 将葛根素原料与合适的双官能团取代的化合物, 在合适的溶剂中和碱作用下, 于室温至回流温度下, 先进行单醚化反应, 再进行胺化反应。具体地讲, 合适的双官能团取代的化合物包括双卤代烃, 烷烃双磺酸酯以及卤代烃的单磺酸酯, 如 1, 2-二氯乙烷, 1, 2-二溴乙烷, 1, 2-二碘乙烷, 1, 2-二氯丙烷, 1, 2-二溴丙烷, 1, 2-二碘丙烷, 1, 3-二氯丙烷, 1, 3-二溴丙烷, 1, 3-二碘丙烷, 1, 2-二氯丁烷, 1, 2-二溴丁烷, 1, 2-二碘丁烷, 1, 4-二氯丁烷, 1, 4-二溴丁烷, 1, 4-二碘丁烷, 1, 2-乙基二磺酸酯, 1, 2-丙基二磺酸酯, 1, 3-丙基二磺酸酯, 1, 2-丁基二磺酸酯, 1, 3-丁基二磺酸酯和 1, 4-丁基二磺酸酯等。溶剂包括水, 丙酮, 二甲基甲酰胺, 二甲亚砜和低级醇等, 低级醇选自甲醇, 乙醇, 丙醇, 异丙醇, 丁醇, 叔丁醇, 异丁醇, 戊醇, 特戊醇, 戊醇-2, 戊醇-3 和己醇等。

本发明进一步优选的化合物为式 I 的药用盐, 如盐酸盐, 这些优选化合物在常温下水中的溶解度优于葛根素。

本发明还涉及一种含有药物有效剂量的如通式 I 所述的化合物和药学上可接受的载体的药物组合物。

药理学研究表明, 本发明通式 I 化合物对血管具有舒张作用, 对因缺氧而致小鼠的死亡时间, 本发明化合物有明显的延长作用, 对大鼠离体心脏缺血-再灌注损伤有保护作用。本发明化合物具有血管扩张作用, 有扩张冠状动脉和脑血管, 降低心肌耗氧量, 改善微循环和抗血小板作用, 具有潜在的防治心脑血管缺血和缺氧作用。

本发明化合物是一类具有葛根素母核的新化合物, 它们可用于预防和治疗冠心病, 各型心绞痛, 心肌梗塞, 脑血管病, 糖尿病及其并发症, 以及化学品中毒特别是酒精中毒。

运用本领域技术人员熟知的药物载体可以制成含有有效剂量的本发明化合物的药物组合物。

本发明化合物或其组合物可用口服方法或非肠道用药。口服用药可以是片剂、胶囊剂、包衣剂、非经肠用药剂型有注射剂和栓剂等。这些制剂是按照本领域的技术人员所熟知的方法制备的。为了制造片剂、胶囊剂、包衣剂所用的辅料是常规用的助剂，例如淀粉，明胶，阿拉伯胶，硅石，聚乙二醇，液体剂型所用的溶剂例如水，乙醇，丙二醇，植物油类如玉米油，花生油，橄榄油等。含有本发明化合物的制剂中还可有其它助剂，例如表面活性剂，润滑剂，崩解剂，防腐剂，矫味剂，色素等。另一方面，本发明化合物的水溶性优于葛根素，因此易于制成全身给药制剂用于心脑血管疾病，糖尿病及其并发症，以及化学品中毒如酒精中毒的防治。

在片剂、胶囊剂、包衣剂、注射剂和栓剂中含有本发明式 I 化合物的剂量是以单元剂型中存在的化合物量计算的。在单位剂型中本发明式 I 化合物一般含量为 10 - 500mg，优选的单位剂型含有 20 - 200mg。

具体实施方式

以下将结合实施例对本发明作进一步说明，但并不限制本发明的范围。

本文中使用的测定仪器为，熔点用 XY-1 型电热熔点仪，温度计读数未经校正，核磁共振光谱用 JNM-ECA-400 型核磁共振仪，质谱用 Zabspec 型质谱仪。

实施例 1: 4' - (3-溴代丙氧基) -7-羟基-8- β -D 葡萄糖碳甙异黄酮 (PC₃)

取氢氧化钠 0.16g (4mmol) 溶于 120ml 无水乙醇中, 加入葛根素 0.8g (1.92mmol), 加热回流至葛根素完全溶解, 稍冷后滴加 1,3-二溴丙烷 0.20ml (2mmol)。继续回流, 共反应 5h。毕, 蒸除溶剂, 所得残留物经硅胶柱层析分离 (二氯甲烷:甲醇 8:1), 得呈白色固体的标题化合物 0.53g, 收率 51.5%. mp:196-197°C. $^1\text{H-NMR}(\text{d}^6\text{DMSO})\delta(\text{ppm})$: 8.39(1H,s,C₂-H), 7.95(1H,d,J=8.7,C₅-H), 7.52(2H,d,J=6,C_{2',5'}-H), 7.01(2H,d,J=6,C_{3',6'}-H), 6.99(1H,d,J=10,C_{1'}-H), 4.00(2H,t,-OCH₂-), 3.69(2H,q,-CH₂Br), 2.28(2H,m,-CH₂-).

实施例 2: 4' - (4-溴代丁氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮 (PC₄)

取氢氧化钠 0.16g (4mmol) 溶于 120ml 无水乙醇, 加入葛根素 0.8g (1.92mmol), 加热回流至葛根素完全溶解, 稍冷后滴加 1,4-二溴丁烷 0.25ml (2mmol)。继续回流反应 5h。毕, 蒸除溶剂, 所得物经硅胶柱层析分离 (二氯甲烷:甲醇 8:1), 得到呈白色固体的标题化合物 0.50g, 收率 47.2%。 mp:198°C. FAB-MS, m/z(%):552.1(M⁺+1,22).

$^1\text{H-NMR}(\text{d}^6\text{DMSO})\delta(\text{ppm})$:8.36(1H,s,C₂-H), 7.96(1H,d,J=9,C₅-H), 7.52(2H,d,J=9,C_{2',5'}-H), 7.01(2H,d,J=9,C_{3',6'}-H), 6.99(1H,d,J=9,C₆-H), 4.86(1H,d,J=10,C_{1'}-H), 4.06(3H,m,-OCH₂-,C_{3'}-H), 3.62(2H,t,J=7,-CH₂Br), 2.02(2H,m,-CH₂-), 1.99(2H,m,-CH₂-).

实施例 3: 4' - (3-N-哌啶丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加

入 0.13ml (1mmol) 哌啶。然后加热回流 9h。毕，减压蒸除溶剂和过量的胺。所得产物经硅胶柱层析分离（甲醇:三乙胺 200:1），再用洗脱液（二氯甲烷:甲醇 6:1）溶解滤除硅胶，得呈白色固体的标题化合物 80mg，收率 52.9%.mp:203-205°C.

FAB-MS,m/z(%):542(M⁺,100).

¹H-NMR(d⁶DMSO), δ (ppm):8.31(1H,s,C₂-H),7.91(1H,d,J=9,C₅-H),7.51(2H,d,J=9,C_{2',6'}-H),6.97(3H,q,J=9,C_{3',5'}-H,C₆-H).4.83(1H,d,J=10,C_{1''}-H),4.01(3H,mC_{3''}-H,-OCH₂-),1.84(2H,m,-CH₂-),1.51(4H,HexahydropyridineC_{3,5}-H),1.47(2H,HexahydropyridineC₄-H).

实施例 4: 4' - (3-N-吗啉丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中，搅拌下加入 0.10ml (1mmol) 吗啉。然后加热回流 9h。毕，减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离（甲醇），再用洗脱液（二氯甲烷:甲醇 6:1）溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 (80mg, 收率 52.7%)。mp:189-190°C.

FAB-MS,m/z(%):544.1(M⁺,55).

¹H-NMR(d⁶DMSO),δ(ppm):8.35(1H,s,C₂-H),7.95(1Hd,J=9,C₅-H),7.51(2H,dJ=9,C_{2',6'}-H),7.00(3H,dd,J=9,C_{3',5'}-HC₆-H).4.85(1H,d,J=10,C_{1''}-H),4.06(3H,m,C_{3''}-H,-OCH₂-),3.62(4H,t, MorpholineC_{2,6}-H),2.48(5H,m,-CH₂N-,MorpholineC_{3,5}-H), 2.0(2H,p,-CH₂-).

实施例 5: 4' - (3-N-吡咯烷丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.13ml (1mmol) 的吡咯烷。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离(甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液(二氯甲烷:甲醇 6:1)溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物(90mg, 收率 61.1%)。mp:193-195°C. FAB-MS,m/z(%):555(M⁺+22, 78),528(M⁺,100). ¹H-NMR(d⁶DMSO), δ (ppm): 8.26(1H,s,C₂-H), 7.82(1H,d,J=9,C₅-H), 7.50(2H,d,J=9, C_{2',6'}-H), 6.96 (2H,d,J=9,C_{3',5'}-H),6.95(1H,d,J=9,C₆-H).4.77(1H,dJ=10, C_{1''}-H),4.00(3H, m,C_{3'''}-H,-OCH₂-),2.50(4H,m, PyrrolidineC_{2,5}-H),1.89(2H,m,-CH₂)1.68(4H,m,PyrrolidineC_{3,4}-H),

实施例 6: 4' - (3-N-二乙胺丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.10ml (1mmol) 的二乙胺。高压釜中 90°C, 加热反应 9h。减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离(甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液(二氯甲烷:甲醇 6:1)溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 50mg, 收率 33.8%。mp:200-203°C. FAB-MS,m/z(%):552(M⁺+22, 100), 530(M⁺,44).

¹H-NMR(d⁶DMSO), δ (ppm): 8.24(1H,s,C₂-H),7.79(1H,d, J=8.7,C₅-H),7.50(2H,d,J=8.7,C_{2',6'}-H),6.96(2H,d,J=8.7,C_{3',5'}-H),6.76(1H,d,J=8.7,C₆-H),4.74(1H,d,J=10C_{1''}-H),4.04(3H,m,C_{3'''}-H,-OCH₂-),2.50(10H,m,-(CH₂)₃N),1.83(2H,m,-CH₂-),0.96(7H,q,-CH₃).

实施例 7: 4 - (3-N-二正丙胺丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙
异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.14ml (1mmol) 的二正丙胺。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 40mg, 收率 25.7%。mp:202-205°C。FAB-MS, m/z(%):580(M⁺+22, 100), 558(M⁺, 84)。¹H-NMR(d⁶DMSO), δ(ppm): 7.90(1H, s, C₂-H), 7.51(1H, d, J=9, C₅-H), 7.47(2H, d, J=8, C_{2',6'}-H), 6.91(2H, d, J=8, C_{3',5'}-H, C₆-H), 6.25(1H, d, J=9, C₆-H), 4.57(1H, d, J=10, C_{1'}-H), 4.03(3H, m, C_{3'}-H, -OCH₂-), 2.50(4H, m, -N(CH₂)₂), 1.83(2H, m, -CH₂-), 0.85(6H, t, -CH₃)。

实施例 8: 4' - (3-N-二正丁胺丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙
异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.14ml (1mmol) 的二正丁胺。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 90mg, 收率 55.1%。mp:198-199°C。FAB-MS, m/z(%):586(M⁺, 12)。¹H-NMR(d⁶DMSO), δ(ppm): 8.04(1H, s, C₂-H), 7.59(1H, d, J=9, C₅-H), 7.48(2H, d, J=8.7, C_{2',6'}-H), 6.92(2H, d, J=8.7, C_{3',5'}-H), 6.41(1H, d, J=9, C₆-H), 4.64(1H, d, J=9.8, C_{1'}-H), 4.03(3H, m, C_{3'}-H, -OCH₂-), 2.49(4H, m, -N(CH₂)₂-), 1.82(2H, m, -CH₂-), 1.27(11H, m, -CH₃)。

-N(CCH₂CH₂)₂-), 0.86(8H,t,-CH₃).

实施例 9: 4' - (3-N-4-甲基哌嗪丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳
甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.12ml (1mmol) 的 1-甲基哌嗪。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 100mg, 收率 64.4%。mp:217-219°C.

FAB-MS,m/z(%):579

(M⁺+22,100), 557.2(M⁺,58).¹H-NMR(d₆DMSO),δ(ppm):8.05(1H,s, C₂-H),7.66(1H,d,J=9,C₅-H),7.48(2H,d,J=8, C_{2'},_{6'}-H) 6.94(2H,d,J=8,C_{3'},_{5'}-H),6.50(1H,d,J=9,C₆-H).4.69(1H,d,J=10 , C_{1'}-H),4.03(3H,m,C_{3'}-H,-OCH₂-),2.49(7Hm,-CH₂N(CH₂)₂-),2.14(3H,s,-NCH₃-),1.07(2H,p,-CH₂-).

实施例 10: 4' - (3-N-乙基哌嗪丙氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳
甙异黄酮

取 PC₃150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.12ml (1mmol) 的 1-乙基哌嗪。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 (110mg, 收率 69.1%)。mp:225-226°C.

FAB-MS,m/z(%):593(M⁺+22,80),571(M⁺,22).¹H-NMR(d₆DMSO), δ(ppm):7.97(1H,s,C₂-H),7.58(1H,d,J=9,C₅-H),7.48(2Hd,J=9,C_{2'},_{6'}-H),6.92(2H,d,J=9,C_{3'},_{5'}-H),6.36(1H,d,J=9,C₆-H)4.64(1H,d,J=10,C₁

...-H), 4.03(3H, m, C₃'-H, -OCH₂-), 1.88(2H, p, -CH₂-), 0.98(3H, t, -NCH₃).

实施例 11: 4' - (4-N-哌啶丁氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.13ml (1mmol) 的哌啶。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 100mg, 收率 66.2%。mp:204-205°C. FAB-MS, m/z(%):556(M⁺, 54). ¹H-NMR(d₆DMSO), δ (ppm):8.36(1H, s, C₂-H), 7.95(1H, d, J=8, C₅-H), 7.53(2H, d, J=8, C₂',₆'-H), 7.03(3H, t, J=8, C₃',₅'-H, C₆-H), 4.82(1H, d, J=10, C₁'-H), 4.05(3H, m, C₃'-H, -OCH₂-), 3.42(2H, m, -CH₂N), 3.00(4H, tt, Hexahydropyridine C_{2,6}-H), 1.78(13H, m, pyridine C_{3,4,5}-H, -CH₂CH₂-).

实施例 12: 4' - (4-N-吗啉丁氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.10ml (1mmol) 的哌啶。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 80mg, 收率 52.8%。mp:195-197°C. FAB-MS, m/z(%):558(M⁺, 43). ¹H-NMR(d₆DMSO), δ (ppm):8.35(1H, s, C₂-H) 7.96(1H, d, J=9, C₅-H), 7.52(2H, d, J=9, C₂',₆'-H), 6.98

(3H,t,J=9,C_{3',5'}-H,C₆-H).4.85(1H,d,J=10,C_{1''}-H),
4.00(4H,m,C_{3''}-H,-OCH₂-),3.69(3H,t,-O(CH₂)₂-),2.81(4H,m,-N(CH₂)₂-),2.58(3H,m,-CH₂N-),1.76(2H,m,-CH₂-),1.68(2H,m,-CH₂-).

实施例 13: 4' - (4-N-吡咯烷丁氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.13ml (1mmol) 的吡咯烷。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离(甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液(二氯甲烷:甲醇 6:1)溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 (110mg, 收率 74.7%)。

mp:198-199°C.FAB-MS,m/z(%):564(M⁺+22,42)

542(M⁺,100). ¹H-NMR

(d⁶DMSO), δ(ppm):8.16(1H,s,C₂-H),7.77(1H,d,J=9,
C₅-H),7.50(2H,d,J=9, C_{2',6'}-H),6.95(2H,d,J=9,
C_{3',5'}-H),6.70(1H,d,J=9,C₆-H).4.75(1H,d,J=10,
C_{1''}-H),4.02(3H,m,C_{3''}-, -OCH₂-),2.49(6H,m,
-CH₂N(CH₂)₂-),1.68(9H,m,-CH₂CH₂-,PyrrolidineC_{3,4}-H).

实施例 14: 4' - (4-N-二乙胺丁氧基) -7-羟基-8-β-D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.10ml (1mmol) 的二乙胺。高压釜中加热, 90°C 下反应 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离(甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液(二氯甲烷:甲醇 6:1)溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 60mg, 收率 40.6%。

mp:206-207°C.FAB-MS,m/z(%):

544(M^+ ,18). 1H -NMR(d^6 DMSO), δ (ppm):8.08(1H,s, C_2 -H),7.62(1H,d,J=9, C_5 -H),7.48(2H,d,J=9, $C_{2',6'}$ -H),6.91(2H,d,J=9, $C_{3',5'}$ -H),6.47(1H,d,J=9, C_6 -H),4.68(1H,d,J=10, $C_{1''}$ -H),4.01(3H,m, $C_{3''}$ -H,-OCH₂-),2.41(4H,m,-N(CH₂)₂-),1.75(2H,p,-CH₂-),1.58(2H,p,-CH₂-),0.92(6H,t,-CH₃).

实施例 15: 4' - (4-N-二正丙胺丁氧基) -7-羟基-8- β -D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.14ml (1mmol) 的二正丙胺。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 40mg, 收率 25.7%。mp:199-203°C. FAB-MS,m/z(%):572(M^+ ,100).

1H -NMR(d^6 DMSO), δ (ppm):8.39(1H,s, C_2 -H),7.95(1H,d,J=9, C_5 -H),7.51(2Hd,J=8.7, $C_{2',6'}$ -H),6.99(2H,d,J=8.7, $C_{3',5'}$ -H),6.88(1Hd,J=9, C_6 -H).4.82(1H,d,J=10, $C_{1''}$ -H),4.02(3H,m, $C_{3''}$ -H,-OCH₂-),1.41-1.73(11H,-CH₂CH₂-, -N(CH₂)₂-),0.86(8H,t-CH₃).

实施例 16: 4' - (4-N-二正丁胺丁氧基) -7-羟基-8- β -D 葡萄糖碳甙异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.14ml (1mmol) 的二正丁胺。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 100mg, 收率 61.3%。mp:198-200°C.FAB-MS,m/z(%):622(M^+ +22,100)

600(M^+ ,100). 1H -NMR(d^6 DMSO), δ (ppm):8.10(1H,s, C_2 -H),7.67(1H,d,J=9, C_5 -H),7.49(2H,d,J=9, $C_{2',6'}$ -H) 6.94(2H,d,J=9, $C_{3',5'}$ -H),6.52(1H,d,J=9, C_6 -H), 4.89 (1H,d,J=10, $C_{1'}$ -H),4.00(3H,m, $C_{3'}$ -H,-OCH₂-),1.28 (8H,m,N(CCH₂CH₂)₂-),0.88(6H,t,-CH₃).

实施例 17: 4' - (4-N-甲基哌嗪丁氧基) -7-羟基-8- β -D 葡萄糖碳 貳异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.12ml (1mmol) 的 1-甲基哌嗪。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后得到呈白色固体的标题化合物 110mg, 收率 70.9%。

mp:225-228°C.FAB-MS,m/z(%):593(M^+ +22,84),571(M^+ ,38). 1H -NMR(d^6 DMSO), δ

(ppm):7.99(1H,s, C_2 -H),7.60(1H,d,J=9, C_5 -H),7.48(2Hd,J=9, $C_{2',6'}$ -H),6.93(2H,d,J=9, $C_{3',5'}$ -H),6.39(1H,d,J=9, C_6 -H),4.86(1H,d,J=10, $C_{1'}$ -H),4.10(3H,m, $C_{3'}$ -H,-OCH₂-),2.49(8H,1-Methylpiperazine $C_{2,3,5,6}$ -H),2.13(3H,s,-NCH₃).

实施例 18: 4' - (4-N-乙基哌嗪丁氧基) -7-羟基-8- β -D 葡萄糖碳 貳异黄酮

取 PC₄150mg (0.27mmol) 溶于 15ml 无水乙醇中, 搅拌下加入 0.13ml (1mmol) 的 1-乙基哌嗪。然后加热回流 9h。毕, 减压蒸除溶剂和过量的胺。所得物经硅胶柱层析分离 (甲醇:三乙胺 200:1), 再用洗脱液 (二氯甲烷:甲醇 6:1) 溶解滤除硅胶。最后

得到呈白色固体的标题化合物 110mg, 收率 69.2%。
 mp:228-230°C.FAB-MS,m/z(%):607(M^+ +22,96),585(M^+ ,54). 1H -NMR(d^6 DMSO), δ (ppm):8.02(1H,s, C_2 -H),7.64(1H,d,J=9, C_5 -H),7.48(2H d,J=9, $C_{2',6'}$ -H),6.93(2H,d,J=9, $C_{3',5'}$ -H),6.45(1H,d,J=9, C_6 -H).4.68(1H,d,J=10, $C_{1'}$ -H),4.06(3H,m, $C_{3''}$ -H,-OCH₂-),2.38(11H,t,1-Ethylpiperazine $C_{2,3,5,6}$ -H),1.74(2H,t,-CH₂-),1.58(2H,m,-CH₂),0.99(3H,t,-CH₃).

实施例 19: 盐酸盐的制备和溶解度试验

盐酸盐制备通法: 取实施例 1 至 18 化合物, 溶解于无水甲醇中, 外用冰水冷却, 滴加足量含无水氯化氢的乙醚溶液, 使得盐的形成完全进行。用无水乙醚洗涤固体至无酸性, 重结晶后得到盐酸盐固体结晶。

溶解度半定量试验: 取上述化合物的盐酸盐 100mg, 加入 2ml 蒸馏水中, 室温搅拌后, 固体全溶。表明这类化合物的盐酸盐在水中的溶解度大于 5g/100ml, 是葛根素溶解度的 10 倍以上。

实验例 1: 体外血管环舒张试验

本实验采用本领域技术人员熟悉的方法进行。

w i s t a r 大鼠断头处死后, 迅速开胸腹, 取主动脉胸腹段, 置于盛有血管营养液的培养皿中, 分离血管周围组织, 剪成长约 3 mm 的动脉条, 分别将两根直径约为 0.1 mm 的不锈钢丝小心穿入, 组成三角环, 随后置于盛有 10 mg 血液营养液的 37°C 恒温浴槽内, 固定并与张力传感器相连, 信号进一步输入自动台式平衡记录仪, 通入 95% O₂ 和 5% 混合气。稳定后开始平筛药物。用去甲肾上腺素使得血管收缩达到最大收缩平衡后,

取 0.1 ml 待选药物溶液加入浴槽中，使药物浓度达到 10^{-5} M，观察 10 分钟。换液后加去甲肾上腺素使得血管收缩达到最大值，然后用 10^{-6} M 的 Ach 检测血管内皮的完整性。在波形记录图上量取最大收缩幅度和给药后的收缩幅度，计算舒张率。

实验例 2：小鼠常压耐缺氧试验

本实验采用本领域技术人员熟悉的方法进行。昆明种小鼠 32 只，雌雄各半，体重 18-20g。随机分成对照组和给药组，每组各 16 只动物。给药量为 60mg/Kg 小鼠，每只动物 0.2ml，腹腔注射试验溶液半小时后，置于 250ml 磨口广口瓶中，密封。记录死亡时间。并分别相对于空白对照和葛根素组，进行统计分析，计算 P 值。

表 抗缺氧活性结果

实施例化合物	死亡时间 (min)	P_1 (空白)	P_2 (葛根素)
生理盐水	37.5 ± 4		
生理盐水+CMC	37.8 ± 5		
生理盐水+CMC+葛根素	48.3 ± 5		
实施例 4	75.3 ± 7	<0.05	<0.05
实施例 6	73.5 ± 9	<0.05	<0.05
实施例 7	69.8 ± 5	<0.05	<0.05
实施例 14	79.1 ± 8	<0.05	<0.05
实施例 17	59.8 ± 7	<0.05	>0.05
实施例 18	75.9 ± 6	<0.05	<0.05

※表示注射后放置时死亡；P 值<0.05 表示相对于空白组和葛根素组，化合物对延长小鼠死亡时间有显著差异。表中各化合物

为相应实施例所制备化合物的盐酸盐。

经过上述试验结果，本领域技术人员所熟知，本发明的化合物对哺乳动物具有舒张血管作用和抗缺氧作用。

实验例 3：糖尿病大鼠降糖试验

雄性 wister 大鼠，重 150 至 180 克，随机分组。按 65mgKg^{-1} 单剂量腹腔注射链脲佐菌素（STZ，Sigma 公司，溶于 0.1molL^{-1} 枸橼酸缓冲液， $\text{pH} = 4.5$ ），以诱发大鼠糖尿病模型。每日腹腔注射药物，剂量为 80mgKg^{-1} ，对照组为等量生理盐水，动物自由饮水和进食，共 16 周。测定血糖、基质金属蛋白酶 3（MMP-3）和组织抑制剂 1（TIMP-1）表达，结果表明这类化合物能有效降低血糖，对糖尿病大鼠肾功能和形态的影响具保护作用。

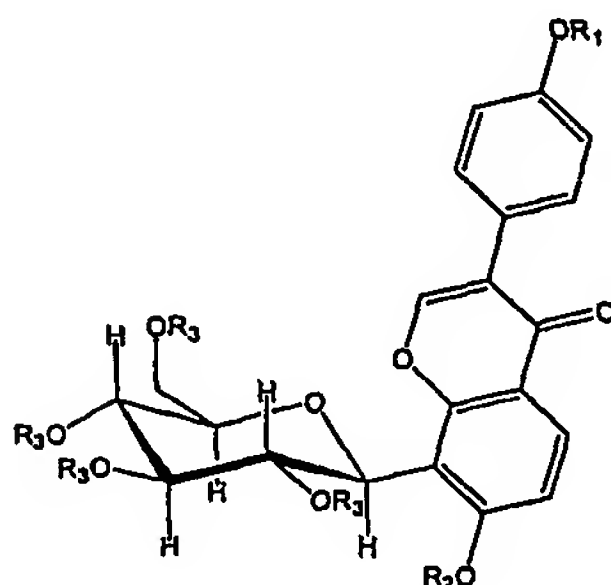
实验例 4：急性酒精中毒大鼠血中乙醇含量测定试验

SD 大鼠重 180 至 240 克，雌雄各半，随机分组。取 40% 浓度酒精，按照 5.5gKg^{-1} 剂量灌胃，给药组同时灌入药物，对照组为生理盐水。分别于灌胃后 15、30、45、60、90 和 120 分钟，采集眼球后静脉丛血，经离心取血清直接进行气相色谱分析，以测定血样中酒精浓度的变化。结果表明，这类化合物能有效降低急性中毒大鼠血中乙醇浓度的作用。

本发明在制备哺乳动物包括人抗心脑血管药物尤其是抗缺氧和缺血药物的应用上具有良好的前景。本发明在制备抗糖尿病及其并发症药物，以及在制备化学品中毒特别是酒精中毒药物的应用上有潜在的价值。

权 利 要 求

1. 如通式 I 所示含烷胺基烷氧基取代基团的糖碳甙异黄酮化合物或其药用盐:



(I)

其中

R_1 和 R_2 分别选自氢、(C1 - C12) 直链或支链烷胺基, 一或二 (C₃₋₈) 环烷基胺基 C₁₋₆ 烷基或 (C5-C14) 杂环基 (C1 - C6) 烷基; R_3 选自氢、(C1 - C12) 直链或支链酰基或 C₆₋₁₄ 芳香碳酰基; 其中 R_1 和 R_2 不同时代表氢; D-葡萄糖基的 1 位与异黄酮 8 位以 β 构型的碳甙相联结。

2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述式 (2) 化合物中 R_1 和 R_2 分别选自氢, 二甲胺基乙基, 二乙胺基乙基, 二正丙胺基乙基, 二异丙胺基乙基, 二正丁胺基乙基, 二异丁胺基乙基, 二叔丁胺基乙基, 吡咯烷基乙基, 哌啶基乙基, 吗啉基乙基, 哌嗪基乙基, N-甲基哌嗪基乙基, N-乙基哌嗪基乙基, 叔丁胺基乙基, 二环己基胺基乙基, 二甲胺基丙基, 二乙胺基丙基, 二正丙胺基丙基, 二异丙胺基丙基, 二正丁胺基丙基, 二异丁胺基丙基, 二叔丁胺基丙基, 吡咯烷基丙基, 哌啶基丙基, 吗啉基丙基, 哌嗪基丙基, N-甲基哌嗪基丙基, N-乙基哌嗪基丙基, 叔

丁胺基丙基, 二环己基胺基丙基, 二甲胺基丁基, 二乙胺基丁基, 二正丙胺基丁基, 二异丙胺基丁基, 二正丁胺基丁基, 二异丁胺基丁基, 二叔丁胺基丁基, 吡咯烷基丁基, 哌啶基丁基, 吗啉基丁基, 哌嗪基丁基, N-甲基哌嗪基丁基, N-乙基哌嗪基丁基, 叔丁胺基丁基, 二环己基胺基丁基, 其中 R_1 和 R_2 不同时代表氢; R_3 选自氢, 丙酰基, 丁酰基, 异丁酰基, 2-甲基丁酰基, 3-甲基丁酰基, 2, 2-二甲基丙酰基, 戊酰基, 己酰基, 庚酰基, 辛酰基, 壬酰基, 癸酰基, 月桂酰基; 或药用盐选自与盐酸、氢溴酸、磷酸、亚磷酸、硫酸、甲磺酸、对甲苯磺酸、马来酸、富马酸、酒石酸、以及各种天然或非天然氨基酸成的盐。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中通式 (I) 化合物选自:

- 4'-(3-N-哌啶基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(3-N-吗啉基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(3-N-吡咯烷基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(3-二乙胺基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(3-二正丙胺基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(3-二正丁胺基丙氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-[3-(4-甲基哌嗪基)丙氧基]-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-[3-(4-乙基哌嗪基)丙氧基]-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(4-N-哌啶基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(4-N-吗啉基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(4-N-吡咯烷基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,
- 4'-(4-二乙胺基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮,

4'-(4-二正丙胺基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮，
4'-(4-二正丁胺基丁氧基)-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮，
4'-[4-(4-甲基哌嗪基)丁氧基]-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮，
4'-[4-(4-乙基哌嗪基)丁氧基]-7-羟基-8-β-D-葡萄糖碳甙异黄酮，或它们的药用盐。

4. 药物组合物，其含有权利要求 1-3 任一所述化合物和药学上可接受的载体。

5. 一种制备权利要求 1-3 中任一所述化合物的方法，其特征在于，将葛根素原料与合适的二卤代烷烃或烷烃的双磺酸酯或卤代烃的单磺酸酯等双官能团取代的化合物，在选自水、二甲基甲酰胺、二甲亚砜或低级醇等溶剂中和碱作用下，于室温至回流温度下，先进行单醚化反应，再进行胺化反应和/或成盐反应，制得相应的烷胺基烷氧基取代的糖碳甙异黄酮化合物或其盐。

6. 如权利要求 1-3 中任一所述的化合物在制备抗心脑血管疾病药物以及抗缺血或缺氧药物中的应用。

7. 如权利要求 1-3 中任一所述的化合物在制备抗糖尿病以及糖尿病并发症药物中的应用。

8. 如权利要求 1-3 中任一所述的化合物在制备抗化学品中毒特别是酒精中毒药物中的应用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2004/000728

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. C⁷ C07H 17/07, A61K 31/7048, A61P 9/10, A61P 3/10, A61P 25/32

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. C⁷ C07H 17/00 C07H 17/04 C07H 17/06 C07H 17/07 C07H 17/075 A61K 31/7048

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CPRS, EPODOC, WPI, PAJ, CNKI, CA, STN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Yang Ruolin, et al., "Preparation and Bio activity of Puerarin Derivatives", Journal of China Pharmaceutical University, 1999, Vol.30, No.2, p81-85	1-8
A	HOU Dian jie, et al., "Study on the preparation of 7,4'-di-O-hydroxyethyl puerarin", Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2002, Apr., Vol12, No2, p103-104	1-8
A	CN1394603A 5.Feb. 2003 (05.02.2003)	1-8
PX	Guang-Yao Gao et al., "Synthesis of daidzin analogues as potential agents for alcohol abuse", Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2003, Sep., Vol.11, No.18, p4069-4081	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14. Sep. 2004 (14.09.2004)

Date of mailing of the international search report

30 · SEP 2004 (30 · 09 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,
100088 Beijing, China

Authorized officer



Telephone No. (86-10)62085562

Facsimile No. 86-10-62019451

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

Best Available Copy

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2004/000728

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO2004/002470A 8. Jan. 2004 (08.01.2004) specification p28, analog17	1

International application No.
PCT/CN2004/000728

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members(s)	Publication date
WO2004/002470A	2004-01-08	US2004068003A	2004-04-08

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2004/000728

A. 主题的分类

Int. C⁷ C07H 17/07, A61K 31/7048, A61P 9/10, A61P 3/10, A61P 25/32

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

Int. C⁷ C07H 17/00 C07H 17/04 C07H 17/06 C07H 17/07 C07H 17/075 A61K 31/7048

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CPRS, EPODOC, WPI, PAJ, CNKI, CA, STN

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	杨若林等, “葛根素衍生物的制备及其活性” 中国药科大学学报, 1999 年, 第 30 卷, 第 2 期, 81-85 页	1-8
A	侯殿杰等, “7,4' -二氧-(β-羟乙基)葛根素的制备研究” 中国药物化学杂志, 2002 年 4 月出版, 第 12 卷, 第 2 期, 103-104 页	1-8
A	CN1394603A 2003 年 2 月 5 日 (05.02.2003)	1-8
PX	Guang-Yao Gao 等, “Synthesis of daidzin analogues as potential agents for alcohol abuse” Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2003 年 9 月出版, 第 11 卷, 第 18 期, 4069-4081 页	1

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 为确定另一篇

引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引

用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

14.9 月 2004 (14.09.2004)

国际检索报告邮寄日期

30 · 9月 2004 (30 · 09 · 2004)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员



电话号码: (86-10)62085562

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2004/000728

C(续). 相关文件

类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	WO2004/002470A (The Endowment for Research in Human Biology, Inc.) 2004 年 1 月 8 日 (08.01.2004) 说明书第 28 页类似物 17	1

国际申请号
PCT/CN2004/000728

Best Available Copy